

PIBIC-CNPq

Estudo bio-guiado dos alcaloides indólicos ativos da *T. catharinensis*

Sigla do Projeto: Indoles

Autores: Gabriela S. Bordin, Pauline F. Rosales, Bianca T. Canci, Mariana R. Ely, Sidnei Moura



Introdução / Objetivo

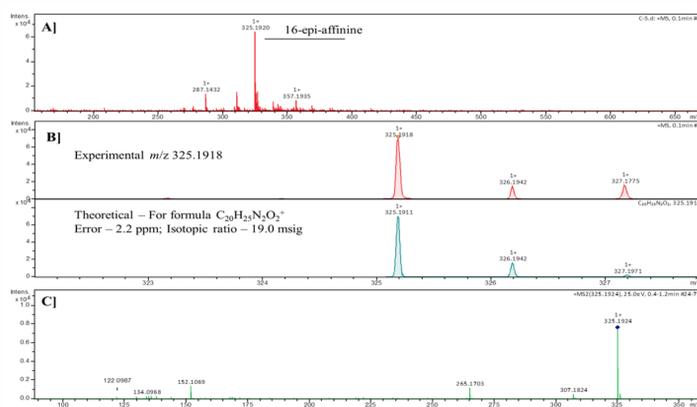
Alcaloides são metabólitos secundários nitrogenados que possuem estruturas complexas e integram com enzimas e proteínas em sistemas biológicos. Estes compostos podem ser divididos em vários grupos, dentre eles, os indólicos, os quais possuem um anel indol na sua estrutura. Esses compostos ocupam uma posição importante na química dos produtos naturais, sobretudo por sua atividade biológica. Por isso estes têm sido alvo de pesquisas que buscam a extração, identificação e o isolamento a partir de fontes naturais.

Desta forma, este projeto realizou um estudo bio-guiado da atividade antitumoral dos alcaloides indólicos da planta *Tabernaemontana catharinensis*.

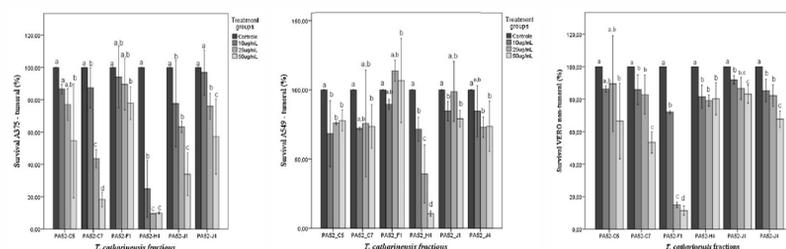
Sendo assim, os objetivos desse trabalho foram fracionar o extrato obtido da planta *T. catharinensis*, identificar os alcaloides indólicos em cada uma das frações e testar a atividade citotóxica contra duas linhagens celulares de câncer (A549 – pulmão e A375 – melanoma) e uma linhagem celular normal (Vero).

Resultados e Discussão

Espectro de massas da fração 1.



No ensaio de toxicidade foi observado que as células A375 demonstraram taxas de sobrevivência acima de 50%, exceto pela fração 4, que era tóxica em todas as concentrações testadas e causou mais de 80% de morte celular. As células A549 apresentaram mais de 60% de sobrevivência, com tendência progressiva de morte para 2, 4 e 6 (dose-dependente). Em comparação, 1 e 5 apresentaram, respectivamente, 27 e 23% maior taxa de mortalidade na menor dose testada.



As frações não se mostraram ativas frente a linhagem A549, entretanto, a fração contendo afinisina mostrou citotoxicidade seletiva contra A375, com IC₅₀ de 11,73 µg/mL, e não citotóxica contra células normais (Vero), com IC₅₀ 148,19 µg/mL.

As frações não apresentaram citotoxicidade significativa para a linhagem celular não tumoral. Algumas frações apresentaram toxicidade para a linhagem A375, como demonstrado na tabela 1. A fração com maior seletividade, foi a 4, no qual contém o alcaloide afinisina.

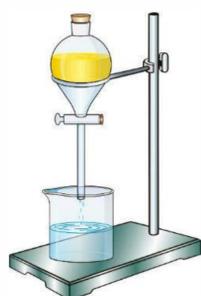
Viabilidade celular IC ₅₀			
Fração	A549	A375	Vero
1	133.62 - 74.15 µg/mL	60.05 - 3.33 µg/mL	86.26 - 25.33 µg/mL
2	82.8 - 11.91 µg/mL	28.39 - 0.23 µg/mL	58.42 - 3.89 µg/mL
3	98.11 - 14.89 µg/mL	138.54 - 3.69 µg/mL	21.03 - 0.14 µg/mL
4	58.67 - 6.14 µg/mL	11.73 - 36.25 µg/mL	148.19 - 4.77 µg/mL
5	216.13 - 69.02 µg/mL	36.25 - 0.78 µg/mL	155.38 - 27.69 µg/mL
6	64.49 - 16.68 µg/mL	56.96 - 15.01 µg/mL	93.86 - 20.53 µg/mL

Tabela 1. Viabilidade celular IC₅₀ de subfrações de *Tabernaemontana catharinensis* utilizando diferentes linhagens celulares.

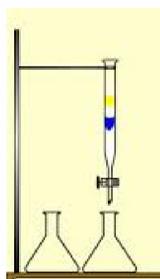
Experimental



As hastes foram coletadas na cidade de Ijuí-RS. O material vegetal triturado foi submetido a extração com ultrassom, utilizando etanol como solvente de extração (10mL/g) por 30 minutos a 40% de amplitude.



O extrato bruto foi submetido a extração líquido-líquido ácido base, utilizando HCl 0,1%, diclorometano e NaOH 10%.



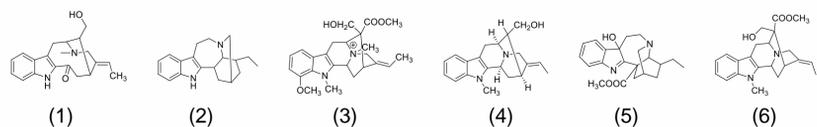
As frações foram separados em coluna aberta (25 cm com silicagel 60) que foi eluída com um gradiente de hexano, CHCl₃ e MeOH, com a polaridade aumentando gradualmente. As frações foram monitorizadas por CCD, reveladas com Dragendorff e reunidas em 58 frações contendo alcaloides indólicos.



Seis frações contendo os principais alcaloides indólicos foram escolhidas para o ensaio biológico. O ensaio MTT foi utilizado para avaliar a citotoxicidade contra as linhagens celulares VERO, A375 e A549.

Resultados e Discussão

A espectrometria de massas de alta resolução - HRMS foi utilizada para identificação de compostos. Foram identificados em diferentes frações os alcaloides: 16-epi-afinina (1), ibogamina (2), 12-metoxi-nb-metil-voachalotina (3), afinisina (4), coronaridina hidroxindolina (5) e voachalotina (6).



Conclusões

A fração 4, que continha a afinisina como composto principal, foi o mais ativo contra as células A375 e não apresentou citotoxicidade contra a linhagem celular normal Vero.

Estes resultados implicam que a afinisina pode ser um potencial quimioterápico para células de melanoma. No entanto, há necessidade de novos estudos com o composto, além de testar a molécula de forma pura, identificando e confirmando suas propriedades, modo de ação, e realizando testes de farmacocinética e farmacodinâmica.

Referências Bibliográficas

- D.J. Newman, G.M. Cragg, Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014, 2016.
- DUARTE, M. R.; FONTE, N. N.; SANTOS, C. A. **Manual Prático – Farmacognosia II**. Universidade Federal do Paraná – UFPR, Departamento de Farmácia, 2010.
- F.F. Marinho, A.O. Simoes, T. Barcellos, S. Moura, Brazilian Tabernaemontanagenus: indole alkaloids and phytochemical activities, *Fitoterapia* 114 (2016) 127–137.